

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**JEFERSON DOS SANTOS VITORINO JÚNIOR  
MARIA CAROLINA TAZINAZZO MANSANO**

**USO DE MÉTODOS ANALÍTICOS SIMPLES PARA A PADRONIZAÇÃO DO  
PROCESSO DE PRODUÇÃO DE HIDROMEL EM PEQUENOS PRODUTORES**

**DOURADOS/MS**

**2020**

JEFERSON DOS SANTOS VITORINO JÚNIOR

MARIA CAROLINA TAZINAZZO MANSANO

**USO DE MÉTODOS ANALÍTICOS SIMPLES PARA A PADRONIZAÇÃO DO  
PROCESSO DE PRODUÇÃO DE HIDROMEL EM PEQUENOS PRODUTORES**

Trabalho de Conclusão de Curso,  
apresentado a Universidade Federal da  
Grande Dourados como requisito para a  
obtenção do título em bacharel em  
Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da  
Paz

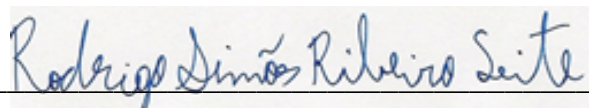
**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz

(Orientador – Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD)



---

Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

(Membro 1 - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD)



---

Prof. Dra. Danielle Marques Vilela

(Membro 2 - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M286u Mansano, Maria Carolina Tazinazzo

Uso de métodos analíticos simples para a padronização do processo de produção de hidromel em pequenos produtores [recurso eletrônico] / Maria Carolina Tazinazzo Mansano, Jeferson dos Santos Vitorino Júnior. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Marcelo Fossa da Paz.

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020. Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

JEFERSON DOS SANTOS VITORINO JÚNIOR

MARIA CAROLINA TAZINAZZO MANSANO

**USO DE MÉTODOS ANALÍTICOS SIMPLES PARA A PADRONIZAÇÃO DO  
PROCESSO DE PRODUÇÃO DE HIDROMEL EM PEQUENOS PRODUTORES**

Trabalho de Conclusão de Curso,  
aprovado pela Banca Examinadora como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Bacharel em Biotecnologia, da  
Universidade Federal da Grande  
Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da  
Paz

Aprovado em: 21 de setembro de 2020.

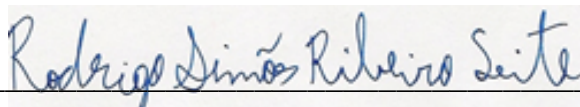
**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz

(Orientador – Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD)



---

Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

(Membro 1 - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD)



---

Prof. Dra. Danielle Marques Vilela

(Membro 2 - Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD)

Dedicamos este trabalho em primeiro lugar a Deus, que nos deu saúde e forças para superar todos os momentos difíceis a que nos deparamos ao longo de nossa graduação e aos nossos pais e irmãos, por serem essenciais em nossas vidas.

## **AGRADECIMENTOS**

A elaboração do presente trabalho não seria possível sem o apoio de alguns intervenientes. Assim sendo, pretendemos agradecer a todos os que sempre nos apoiaram e contribuíram para a realização e concretização desta etapa final de nossa graduação.

Deste modo, agradecemos:

A Deus, por nos dar saúde e forças para superar as todas as dificuldades que nos permitiram chegar até aqui.

À Universidade e ao corpo docente, por disponibilizar estrutura e conhecimento para o desenvolvimento deste trabalho e posteriormente, nossa formação.

Ao nosso orientador Marcelo, por todo apoio e paciência ao longo da elaboração do nosso projeto final.

À Lígia, que nos auxiliou com a execução de toda as análises laboratoriais.

Aos nossos pais, pois tudo isto foi possível graças ao esforço e dedicação que sempre tiveram.

Aos nossos irmãos, que nos apoiaram e nos motivaram.

À Iara Maria que esteve ao nosso lado durante toda a graduação, nos incentivando e auxiliando na execução do presente trabalho.

Às nossas famílias, por todo o apoio nos dado.

## RESUMO

A produção de hidromel é uma atividade muito lucrativa para os apicultores, pois agrega valor ao mel. No entanto, é realizada em condições semi-artesanais e, portanto, deve ser padronizada. O mel é uma matéria-prima muito variável em relação a sua composição, dificultando a sua padronização. A maioria dos produtores adota o volume de mel ou a determinação do °Brix, com refratômetros manuais, como parâmetro para a preparação do mosto, que são metodologias não tão precisas. O estudo de métodos analíticos mais confiáveis e acessíveis para pequenos produtores é necessário para reduzir a variabilidade dos produtos finais de acordo com as normas do vinho da uva. Para estudar essa padronização, foram realizadas fermentações de 120 dias à temperatura ambiente, com dois mostos em diferentes concentrações de mel, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* da variedade *bayanus*, com amostragem mensal do fermentado onde os açúcares avaliados foram glicose, frutose e sacarose, utilizando método de Lane-Eynon para determinação de AR e ART, onde a glicose foi determinada por glicosímetro, além disso, o etanol foi quantificado por alcoometria. Os resultados mostraram que a maior parte da fermentação alcoólica ocorre nos primeiros 30 dias, estabilizando-se posteriormente. Também ficou claro que a glicose tem a melhor correlação com a geração de etanol de 0,98 para 1 e ainda é o método mais acessível, pois além de ser encontrada em qualquer farmácia, é precisa, barata e rápida. Também foi demonstrado que há maior eficiência de conversão de álcool no mosto com menor concentração de mel, o que é interessante em termos de custo-benefício.

**Palavras-chave: Hidromel, consumo de glicose, preferências metabólicas**

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	10
<b>3. REFERENCIAL</b> .....	11
3.1. Apicultura .....	11
3.3. Fermentação alcoólica .....	12
3.4. Hidromel .....	13
3.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	14
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	15
4.1. Mel .....	16
4.2. Preparação do mosto de mel .....	16
4.3. Fermentação .....	16
4.4. Separação do vinho .....	16
4.5. Análises físico-químicas do hidromel .....	17
4.5.2 Determinação de glicose .....	17
4.5.3 Quantificação de açúcares redutores em glicose .....	17
4.5.4 Quantificação de açúcares totais .....	17
4.5.5 Teor alcoólico .....	18
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
5.1. Análise do mosto .....	18
5.2. Análises Hidromel .....	19
5.3. Correlação entre açúcares e teor de álcool .....	22
5.4. Correlação entre Glicose e Grau Brix .....	23
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	26
APÊNDICE 1 - Tabela 2: Resultados das análises realizadas com os vinhos doce e seco .....	29
APÊNDICE 2 - Tabela 3: Diferença .....	29



## 1. INTRODUÇÃO

A apicultura, um empreendimento de baixo investimento e custo operacional, gera produtos naturais, com a possibilidade de produção de mel orgânico quando os apiários estão localizados em vegetação nativa. Em relação à quantidade produzida e comercializada, o produto apícola que mais se destaca é o mel. Além do mel, a apicultura gera outros produtos como a cera, o pólen, a própolis, a geleia real e a apitoxina, utilizada para fins farmacêuticos (BARBOSA, 2013).

O mel é o produto natural das abelhas, obtido através do néctar das flores, secreções das plantas ou excreções de insetos que sugam as partes vivas das plantas. Constituído essencialmente de vários açúcares, o mel é rico principalmente de frutose e glicose, além de outros componentes como ácidos orgânicos, enzimas e partículas sólidas coletadas pelas abelhas (SILVA et al., 2006). Considerado o produto apícola mais fácil de ser explorado, o mel é o mais conhecido por apresentar maior facilidade de comercialização. Além de ser um alimento em sua forma natural, o mel também é utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas por apresentar ações terapêuticas (FREITAS, 2004).

Os monossacarídeos podem variar de 85% a 95% da composição do mel, estes açúcares apresentam capacidade de reduzir íons de cobre quando em solução alcalina. Em função de sua baixa solubilidade, a glicose é responsável pela granulação do mel, e devido ao alto teor de umidade da fase aquosa recorrente da sua precipitação, alguns grupos de leveduras como exemplo as osmofílicas se desenvolvem e se multiplicam facilmente promovendo a fermentação alcoólica (GÓIS et al., 2013)

A frutose é um dos fatores responsáveis pela doçura do mel. Um dos dissacarídeos predominantes no mel é a sacarose, que quando encontrada em concentração elevada pode ser indicativo de adulteração (BARBOSA et al., 2014).

Considerada uma das bebidas alcoólicas mais antigas consumida pelo homem, o hidromel é uma bebida obtida através da fermentação alcoólica de uma solução de mel de abelhas, leveduras, sais minerais e água potável, sendo a sua graduação alcoólica compreendida entre 4 e 14° GL (FERNANDES, 2009). Na maioria das vezes o hidromel é produzido de forma artesanal e a sua fermentação é um processo

demorado podendo levar vários meses para ser concluído. A capacidade do hidromel ser fermentado depende da variedade de mel, da cepa de levedura, da composição do mosto e do controle do pH (PEREIRA et al., 2013).

Uma das linhagens de levedura considerada mais recomendada para a produção de hidromel é a ICV D47, da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, visto que apresenta uma alta taxa de fermentação e baixa produção de acetaldeído e acidez volátil (FONSECA, 2013).

O Brix é uma escala numérica utilizada para determinar a quantidade em porcentagem de sólidos solúveis contidos em uma amostra. Todos os sólidos que se encontram dissolvidos na água como, açúcar, sais, proteínas e ácidos são os chamados sólidos solúveis. A soma total desses é o valor medido pelo refratômetro, observado durante a leitura. Quando se trata de uma solução de açúcar, a leitura em porcentagem de Brix deve coincidir com a concentração real de açúcar presente na solução. A escala Brix é calibrada pelo número de gramas de açúcar contidos em 100 g de solução (CAVALCANTI et al., 2006).

Considerando que a produção de hidromel não possui padrões para que seus produtores possam seguir, isso faz com que a produção final de álcool não seja previsível, devido ao desconhecimento da relação dos componentes da matéria-prima que são precursores da formação do álcool. Dessa forma, este trabalho busca a melhoria e facilidade na produção de hidromel de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação.

## **2. OBJETIVOS**

- Produzir hidromel a fim de caracterizá-lo durante o processo de fermentação.
- Caracterizar a preferência do consumo de açúcares pela levedura.
- Relacionar a formação de álcool ao final da fermentação com os componentes da matéria-prima.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Apicultura

A apicultura é a criação de abelhas, especialmente com fins industriais, é uma das atividades mais antigas do mundo e presta grande contribuição ao homem devido a polinização feita pelas abelhas, à produção de mel, geleia real, pólen e cera (MENEZES; MATTIETTO; LOURENÇO, 2018).

A apicultura brasileira teve início oficialmente em 1839, quando houve a importação de algumas colônias de *Apis mellifera* da região do Porto, localizada em Portugal, realizada pelo padre Antônio Carneiro (A.B.E.L.H.A., 2015), e a partir desta data a atividade começou a ser praticada racionalmente em terras brasileiras (GONÇALVES; BINOTTO; CINTRA, 2015).

Atualmente, a criação de abelhas no Brasil é dividida em apicultura e meliponicultura. A apicultura é o manejo de colmeia de abelhas *Apis mellifera* e a meliponicultura é a criação e manejo de abelhas sem ferrão, e esta prática vem ganhando cada vez mais espaço no mercado (DAMASCENO DO VALE et al., 2018).

De acordo com o último registro do IBGE - Pesquisa da Pecuária Municipal em 2018 o Brasil produziu em torno de 42,3 toneladas de mel, e a região com maior produção é a Região Sul brasileira, seguida da Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Norte do país (IBGE).

#### 3.2. Mel

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000):

*“...o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia...”*

O mel é composto basicamente de água e uma alta concentração de açúcares, estando presentes em maior quantidade os monossacarídeos glicose e frutose, que apresentam em torno de 80% da quantidade total (EMBRAPA, 2002).

Pela legislação brasileira o limite de sacarose permitido por lei é de 60 g/kg de mel, sendo que é um indicador de fraude (BRASIL, 2000). A proporção entre os açúcares está diretamente relacionada com a fonte do néctar coletado pelas abelhas e a relação entre os dois açúcares é responsável pelo sabor do produto. Devido ao fato da glicose ser menos solúvel em água do que a frutose, os méis com maior relação frutose/glicose permanecem em estado líquido por maiores períodos de tempo. Dessa forma, o teor de glicose influencia diretamente na cristalização do mel (RAMALHOSA et al., 2011). Também fazem parte da composição do mel vitaminas, enzimas, carotenoides, ácidos orgânicos, minerais flavonoides e substâncias aromáticas (DA SILVA, 2016). O crescimento da maioria dos microrganismos no mel é inibido devido à alta concentração de açúcares e elevada pressão osmótica, porém, quando diluído, o mel é altamente fermentescível (QUEIROZ et al., 2014).

As características apresentadas pelo mel, como coloração, sabor, aroma e suas propriedades estão diretamente relacionadas a fatores como a espécie de abelha que o produziu, a fonte de néctar utilizada na produção, da origem geográfica do mel (EMBRAPA, 2002). Além disso, como o mel é resultante da desidratação do néctar das flores coletado pelas abelhas, a variação da composição do néctar influencia diretamente na composição do mel, o que lhe confere identidade e características específicas para cada mel produzido (KOBBLITZ, 2011).

### **3.3. Fermentação alcoólica**

A fermentação alcoólica é o processo que ocorre em anaerobiose, podendo ser realizado por leveduras, a partir da degradação de moléculas orgânicas de carbono presentes no mosto são convertidos principalmente em etanol e gás carbônico. Além da formação destes produtos há a produção de moléculas secundárias, tais como glicerol, ácidos orgânicos, aldeídos, ésteres entre outros, que compõem o aroma e sabor de bebidas fermentadas e destiladas.

Ao se inocular a levedura ao mosto já se inicia o processo de fermentação alcoólica dos açúcares contidos nele. A fermentação pode ser dividida em três fases: a fases: preliminar, tumultuosa e complementar.

Na fase preliminar, também conhecida como fase Lag (ou fase de adaptação), tem início no contato da levedura com o mosto. A fase preliminar é caracterizada pela intensa multiplicação celular, baixo desprendimento de dióxido de carbono e pequena elevação de temperatura, o que garante a produção de elevada quantidade de células.

Na fase tumultuosa há um intenso e volumoso desprendimento de dióxido de carbono, eleva-se a temperatura rapidamente, a densidade do mosto se reduz devido ao consumo dos açúcares e eleva-se a concentração de álcool e acidez do mosto.

Na fase complementar ocorre uma redução na intensidade e do desprendimento do dióxido de carbono, redução da agitação do líquido e na temperatura (LIMA et al., 2001).

### **3.4. Hidromel**

Vinhos elaborados com frutas, exceto uva, obrigatoriamente, pela legislação brasileira recebem o nome de vinho acompanhado do nome da fruta da qual se originou. Porém, o vinho elaborado a partir do mel recebe o nome especial de hidromel, sendo este o vinho mais antigo que se tem conhecimento (AQUARONE, et al, 2002).

Estima-se que, no mundo, sejam produzidas em torno de 1.200.000 toneladas de mel por ano. Em muitas localidades o mel é vendido por um preço abaixo do seu custo de produção, dessa forma, a fabricação do hidromel se torna uma alternativa viável para agregar valor aos produtos oriundo dessa matéria-prima (GOMES, 2010).

As características organolépticas do hidromel, como aroma e sabor, estão diretamente relacionadas à levedura utilizada no processo fermentativo. Há a produção do etanol durante o processo, porém este está pouco relacionado com tais características, essas são conferidas a bebida através da formação de compostos aromáticos produzidos através do metabolismo secundário das leveduras (BRUNELLI et al., 2017).

De acordo com a Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008 o hidromel deve possuir graduação alcoólica com valor mínimo de quatro e máximo de quatorze, expressa em porcentagem de volume alcoólico. Além disso ele pode ser classificado como seco, licoroso, doce ou espumoso. Isso dependerá da quantidade de mel utilizada para a produção, a graduação alcoólica do produto, e o tempo de fermentação (GOMES, 2010).

### **3.5. *Saccharomyces cerevisiae***

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o microrganismo mais amplamente estudado devido à sua facilidade em trabalhar, pois não é patogênico e possui um histórico de aplicações na produção de produtos (OSTERGAARD; OLSSON; NIELSEN, 2000).

Leveduras são fungos unicelulares, não filamentosos, que se reproduzem assexuadamente e geralmente apresentam formas esféricas ou ovais. Estas são capazes de sobreviver em vários ambientes, levando em conta que podem realizar crescimento anaeróbio facultativo (TORTORA et al., 2017).

Atualmente, sabe-se que a *Saccharomyces cerevisiae* possui duas principais vias metabólicas para a assimilação de sacarose. Uma delas é conhecida como via intracelular, a sacarose é inicialmente transportada ativamente através da membrana plasmática para o interior da célula onde será hidrolisada. Na via extracelular, nesta, a sacarose é hidrolisada no espaço periplasmático por meio da enzima invertase, e gera moléculas de glicose e frutose, que são transportadas para o interior das células e metabolizadas através da via glicolítica (GOMBERT et al., 2011).

Quando a levedura está inserida em um ambiente onde há a ausência de oxigênio, esta, fermenta o carboidrato disponível e produz etanol e dióxido de carbono, este processo é chamado de fermentação alcoólica. Este processo é muito utilizado em processos industriais e na produção de alimentos, como a produção de etanol combustível, pães, cerveja, entre outros (TORTORA et al., 2017).

### **3.6. A fermentação do Hidromel**

Para a produção do hidromel a linhagem de levedura normalmente inoculada é a *Saccharomyces cerevisiae*, a mesma utilizada na produção de vinhos e cervejas. Seu metabolismo é capaz de metabolizar açúcares como glicose, frutose e sacarose contidos no meio e formar etanol e dióxido de carbono (RAMALHOSA et al., 2011).

A quantidade de água contida no mel é muito variável, máxima permitida é de 20%, e sua elevada concentração de açúcares faz com que a fermentação deste só seja possível quando diluído. Portanto, a atividade de água e a diferença entre os teores de açúcares, influenciam diretamente no processo fermentativo (QUEIROZ, 2014).

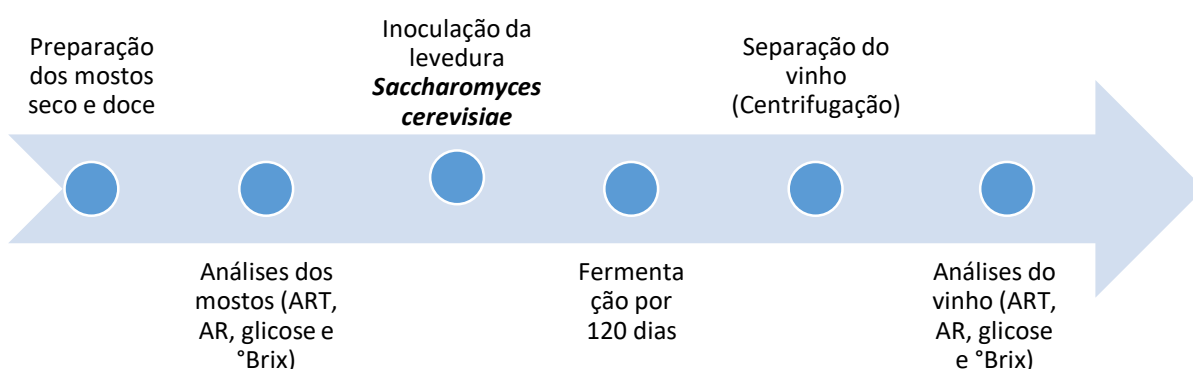
Para a produção do hidromel, que contém um mosto com características particulares, baixo teor de nitrogênio e elevada quantidade de açúcares, é necessário utilizar cepas de levedura que sejam capazes de sobreviver em condições de estresse fermentativo e que seja resistente ao dióxido de enxofre, já que este chega a altas concentrações ao fim da fermentação (RAMALHOSA et al., 2011).

Os mostos de hidromel são caracterizados pelo pH baixo e por uma combinação de ácidos que têm origem no mel, os quais podem influenciar a taxa de fermentação (QUEIROZ, 2014), além disso, o pH do mosto pode cair no decorrer da fermentação, limitando a eficiência do processo fermentativo pela levedura. Para o controle do pH tampões podem ser utilizados. Há na literatura, muitas recomendações sobre a temperatura de fermentação, estas abrangem de 10°C a 40°C (RAMALHOSA et al., 2011), porém quanto mais alta a temperatura, maior a velocidade de fermentação, entretanto, eleva também o risco por contaminação bacteriana (QUEIROZ, 2014).

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O preparo do hidromel seguiu etapas desde a hidratação do mel (preparo do mosto) até a separação das leveduras (Fluxograma 1).

##### Fluxograma 1. Procedimentos para o preparo do hidromel



Fonte: Os autores.

#### **4.1. Mel**

O mel utilizado para o preparo do mosto foi disponibilizado diretamente por um apicultor de Dourados-MS.

#### **4.2. Preparação do mosto de mel**

Para a preparação do mosto para a produção de hidromel foram utilizados água, mel e levedura *Saccharomyces cerevisiae* (variedade *bayanus*), marca Maurivin®. Foram preparados dois mostos, o primeiro com a concentração de 300 g de mel por litro de água, denominado mosto seco, e o segundo com a concentração de 500 g de mel por litro de água denominado mosto doce (que gera um hidromel doce). Estas denominações se referem ao produto final, onde a maior concentração inicial de açúcares gera um hidromel mais adocicado. A quantidade de levedura utilizada foi de 20 g/100 L de mosto. Foram preparados 4 litros de mosto para cada concentração, volume suficiente para a realização do estudo.

O mosto foi preparado em garrações de água mineral de 20 litros (galões plásticos) que foram lacradas com batoque hidráulico para manter a fermentação em condições anaeróbicas.

#### **4.3. Fermentação**

A fermentação ocorreu por meio de um processo de batelada simples, em galões plásticos tampados e compostos por uma saída de gás por 120 dias, à temperatura ambiente. Foram retiradas amostras para a realização de análises do mosto, e posteriormente a cada 30 dias. Portanto, a fermentação foi monitorada nos dias 0, 30, 60, 90 e 120.

#### **4.4. Separação do vinho**

A separação do vinho (fermentado alcoólico) foi realizada por centrifugação com o objetivo de se realizar as análises químicas do hidromel. Portanto, o fermentado foi retirado do biorreator e colocado em centrífuga a 1510,2 G por 10 min, onde o sobrenadante (líquido fermentado) separou-se da biomassa (levedura).



## **4.5. Análises físico-químicas do hidromel**

### **4.5.1 Determinação de sólidos solúveis totais**

Os sólidos solúveis indicam as substâncias que se apresentam dissolvidas no mel. A escala Brix foi criada por Adolf Brix, é utilizada para determinar a quantidade de sólidos solúveis de uma solução (CAVALCANTI et al., 2006). Para sua determinação utiliza-se refratômetros, o utilizado neste estudo foi o refratômetro portátil.

### **4.5.2 Determinação de glicose**

Para a determinação de glicose contida no mosto foram realizadas diluições para a quantificação utilizando o glicosímetro Accu-Chek®.

### **4.5.3 Quantificação de açúcares redutores**

Para a determinação de açúcares redutores foi utilizado o método de Lane-Eynon (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para a solução titulada foram misturados 10 mL de solução A e B de reativos de Fehling e 40 mL de água destilada, que foi levado à fervura para o início da titulação. Após a fervura foi adicionada uma gota de azul de metileno. O aparecimento de um precipitado vermelho foi utilizado como indicador de ponto de viragem. É necessário o preparo da amostra de açúcares que será utilizada como agente titulante. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

### **4.5.4 Quantificação de açúcares totais**

Foram utilizados os mesmos procedimentos descritos acima. Porém, o preparo da amostra utilizada como agente titulante passou por uma hidrólise ácida com HCl concentrado.

#### 4.5.58 Teor alcoólico

O teor alcoólico foi determinado por densidade (alcoômetro). Para isso cada amostra foi destilada em destilador de álcool (Marconi MA 012/1) para a retirada de outros sólidos solúveis que porventura pudessem alterar a densidade. O volume de amostra foi de 50 mL, destilado até 30 mL e completado com água de osmose reversa até o volume de 50 mL.

A alcoometria foi realizada transferindo-se a mistura hidroalcoólica para uma proveta para que fosse aferido a temperatura e o teor alcoólico. Para isso, O termômetro foi introduzido para a determinação da temperatura da amostra. Em seguida, o alcoômetro foi imerso na solução e a leitura foi realizada após alcançar o equilíbrio. Os dados foram anotados e comparados com a tabela matemática de título alcoométrico para a determinação do teor alcoólico.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Análise do mosto

A caracterização do mosto quanto à sua composição apresentou relação não linear entre as denominações mosto seco e mosto doce, pois não seguiu a relação de 0,6 (300/500). Os resultados encontrados estão expressos na Tabela 1.

**Tabela 1. Composição de açúcares nos mostos preparados**

Análise/ Unidade	Mosto - Seco	Mosto – Doce	Relação de açúcares
Glicose / (g/L)	36,19	60,17	0,60
Frutose / (g/L)	91,37	219,59	0,41
Sacarose / (g/L)	13,98	4,71	2,96
°Brix	14,00	30,70	0,46

Fonte: Os autores.

Legenda: Mosto seco preparado com 300 g/L de mel. Mosto doce preparado com 500 g/L de mel. Relação de açúcares = (Mosto – Seco) / (Mosto – Doce).

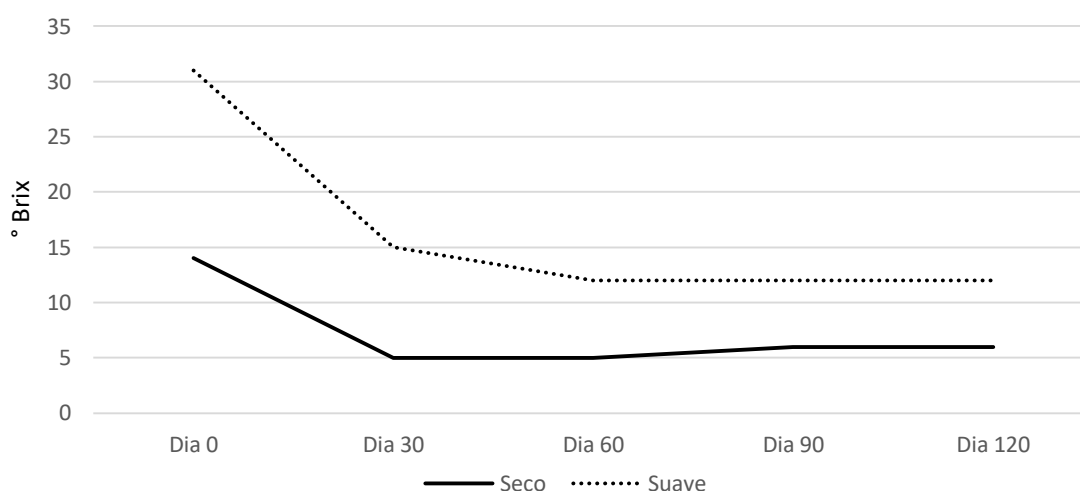
Os resultados da tabela 1 não podem ser explicados de forma lógica, mas fica claro que a simples diluição do mel (todo de uma mesma amostra) já causa uma grande variação na composição do mosto. Acredita-se que a alta viscosidade interfere

diretamente na distribuição dos açúcares no mel impedindo que mostos sejam todos homogêneos, o que interfere diretamente na consistência de produção, resultando numa variabilidade grande entre os lotes de fermentação.

## 5.2. Análises do Hidromel

Os resultados do consumo de açúcares presentes no substrato, pela levedura, assim como, a produção de etanol durante os 120 dias de fermentação estão demonstrados no Gráfico 1. O consumo dos açúcares pode ser demonstrado pela curva de °Brix e pelas curvas de açúcares redutores totais (Gráficos 2 e 3).

**Gráfico 1. Resultado das análises de °Brix dos hidroméis seco e doce no decorrer do processo fermentativo**



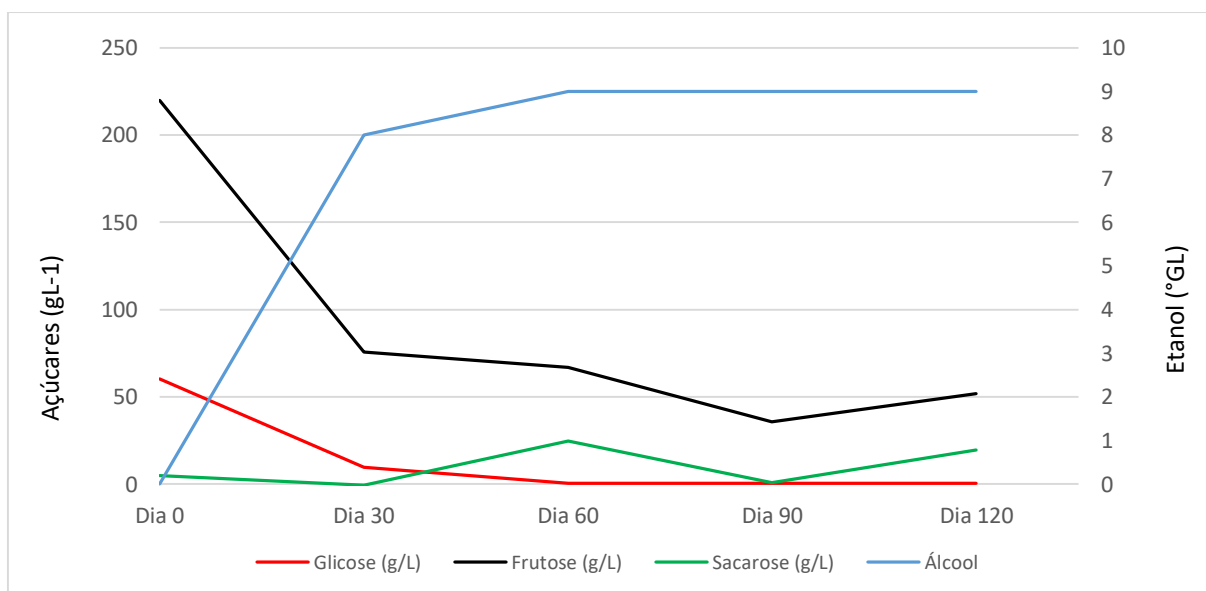
Fonte: Os autores.

No gráfico 1 podemos observar que já nos primeiros 30 dias de fermentação houve uma queda considerável nos valores em °Brix, nos mostrando que, conforme os açúcares vão sendo consumidos durante os processos fermentativos, os valores de °Brix também diminuem. Apesar de ser uma medida indireta o °Brix apresenta um perfil de redução condizente com o fenômeno observado. Contudo, apesar da curva apresentar coerência, a redução no °Brix do hidromel doce foi muito superior à do hidromel seco dando uma diferença de 10,7 ° Brix. Essa medida por ser indireta não apresenta uma relação direta com o teor de açúcares, pois mede todos os sólidos solúveis (CAVALCANTI, et al. 2006). Assim a maior redução do Brix representa o consumo de outros sólidos solúveis, não respeitando a mesma proporção do consumo dos açúcares redutores totais (ART).

Quando se comparam os valores de ART entre o hidromel doce e o seco e, considerando-se o padrão de conversão de açúcares a álcool de 17 g/L gera 1 °GL (GASTONI; VENTURINI FILHO, 2011), a estimativa pelos açúcares redutores totais seria que o hidromel seco gerasse 7 °GL final e o doce em torno de 10,46 °GL, quando respectivamente foram gerados 8 e 9 °GL (APÊNDICE 1). Assim pode-se considerar que na composição do mosto, o hidromel seco foi mais eficiente na conversão de açúcar em etanol do que o doce.

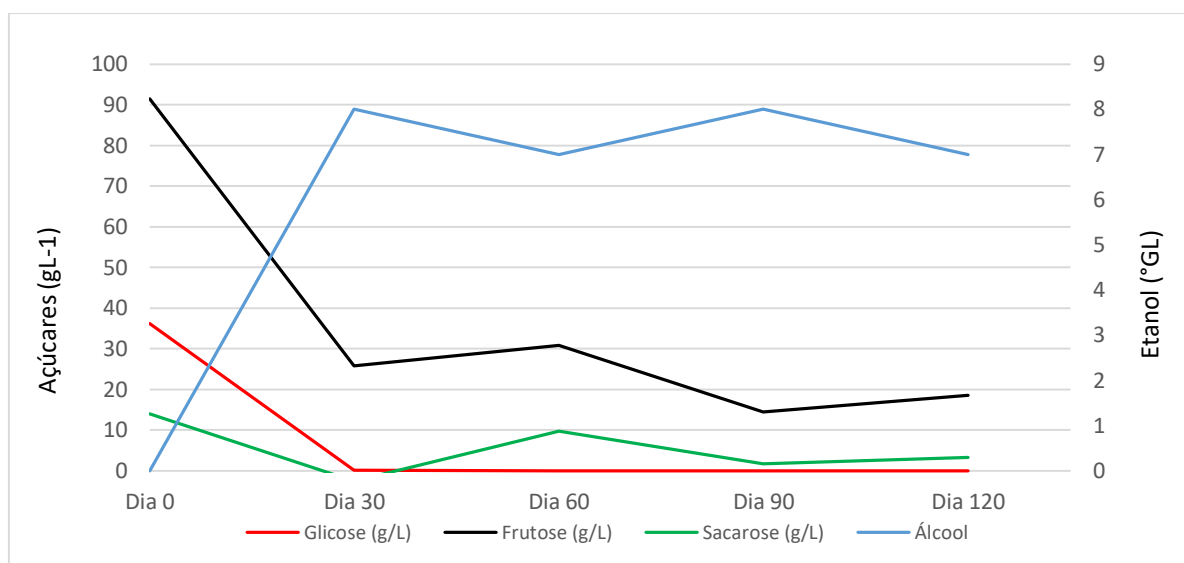
Essa diferença pode ser explicada devido a três fenômenos sinérgicos, maior pressão osmótica, concentração de álcool e maior concentração de inibidores como ácidos graxos (hexanoicos, octanoicos, ácido decanoico), proteínas (enzimas), compostos furfurais e hidroximetilfurfurais e fenólicos no mosto com maior concentração de mel (SROKA; SATORA, 2017). Esses fatores podem reduzir o crescimento da levedura, a cinética de fermentação e a produção de etanol.

**Gráfico 2. Resultado das análises do consumo de açúcares pela *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*) durante o processo fermentativo do hidromel doce**



Fonte: Os autores.

**Gráfico 3. Resultado das análises do consumo de açúcares pela *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*) durante o processo fermentativo do hidromel seco**



Fonte: Os autores.

A partir dos gráficos referentes ao consumo de açúcares, nota-se um alto consumo de açúcares já nos primeiros 30 dias de fermentação. Podemos observar a glicose como preferência inicial da *Saccharomyces cerevisiae* durante o processo fermentativo dos hidroméis seco e doce, considerando que já no primeiro mês de fermentação é possível observar a glicose sendo totalmente consumida no processo fermentativo do hidromel seco, não sendo diferente no processo fermentativo do hidromel doce.

O residual de açúcares no final da fermentação foi de aproximadamente 50 g/L de frutose no doce e pouco menos de 20 g/L no seco e a glicose não deixou residual para ambos hidroméis. A somatória dos açúcares residuais foi muito abaixo do esperado conforme afirmação de Švecová et al. (2015) que encontraram um residual de açúcares redutores (Glicose + Frutose) na casa dos 200 g/L, que sendo os autores é o esperado para hidroméis doces (doces).

Para ambos hidroméis o residual de frutose foi maior que o de glicose corroborando com o trabalho de Švecová et al. (2015) que ao analisarem 22 amostras de hidroméis encontraram um perfil de açúcares residuais com 18 das 22 amostras analisadas mostrando um residual maior de frutose.

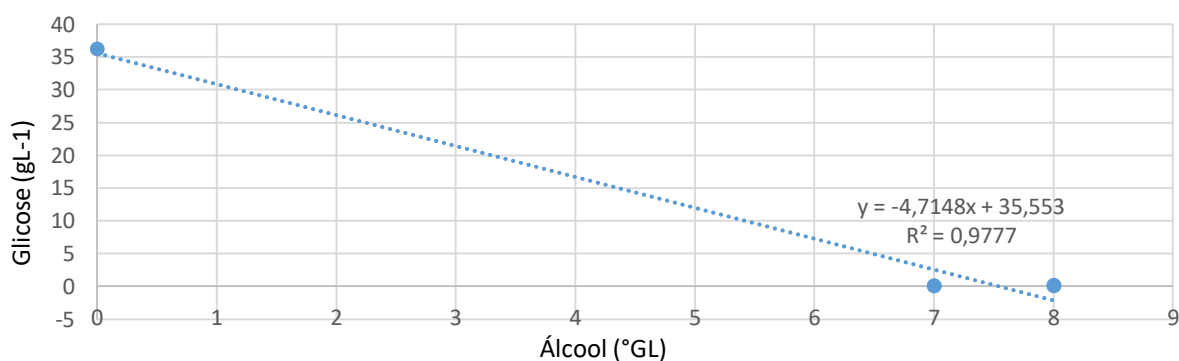
Para sacarose, os valores se mantiveram sempre baixos desde o início e, os gráficos demonstram um comportamento mascarado pelo erro experimental, já que há uma oscilação inexplicável na curva. Essa grande variação se deve ao fato de o

método de análise ser realizado pela hidrólise e determinação de todos os açúcares (ART), descontado o valor dos açúcares redutores (AR) potencializando o erro experimental do método Lane-Eynon.

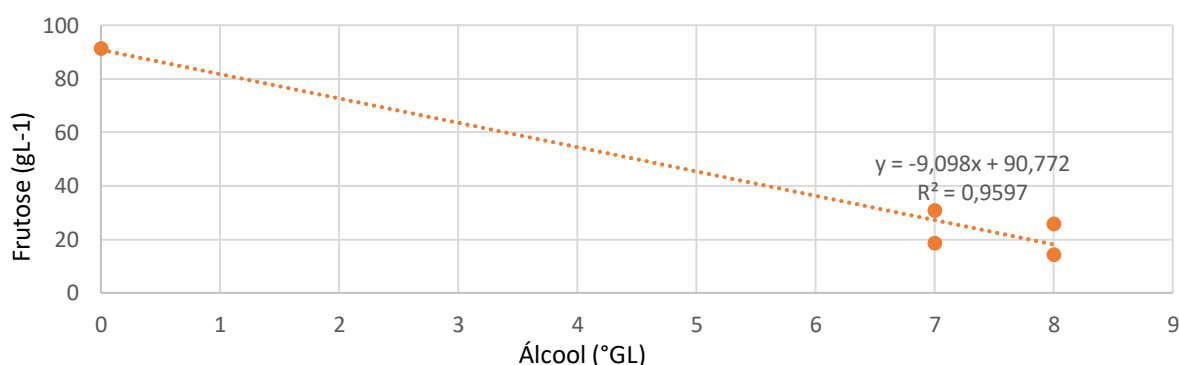
### 5.3. Correlação entre açúcares e teor de álcool

As correlações entre os açúcares e álcool estão demonstradas nos gráficos 4 a 9.

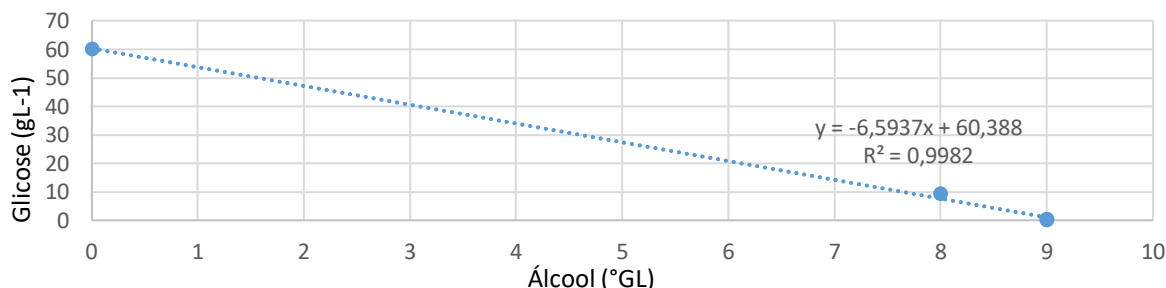
**Gráfico 4. Relação entre o consumo de glicose e a produção de etanol, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel seco**



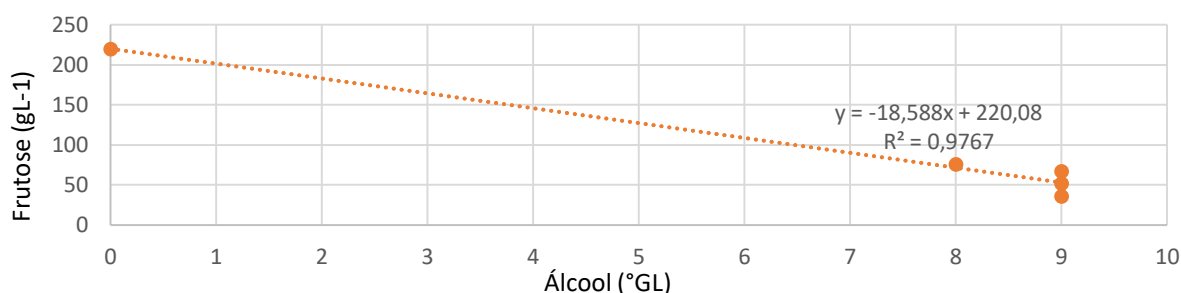
**Gráfico 5. Relação entre o consumo de frutose e a produção de etanol, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel seco**



**Gráfico 6. Relação entre o consumo de glicose e a produção de etanol, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel doce**



**Gráfico 7. Relação entre o consumo de frutose e a produção de etanol, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel doce**

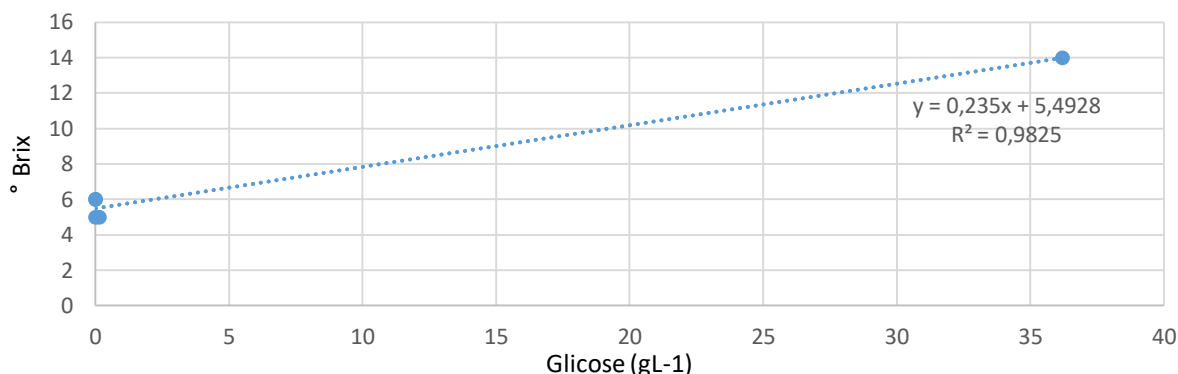


De acordo com os resultados da análise da correlação entre açúcares e teor alcoólico (Gráfico 4, 5, 6 e 7), o consumo de frutose e glicose apresentou alta correlação positiva com a produção de etanol por *S. cerevisiae* no processo de fermentação. No hidromel seco a correlação de glicose foi de 0,98 e a frutose foi de 0,96, enquanto no doce foram quase 1 para glicose e 0,98 para frutose. O mesmo não se aplica ao consumo de sacarose, com uma correlação muito baixa com a produção de etanol.

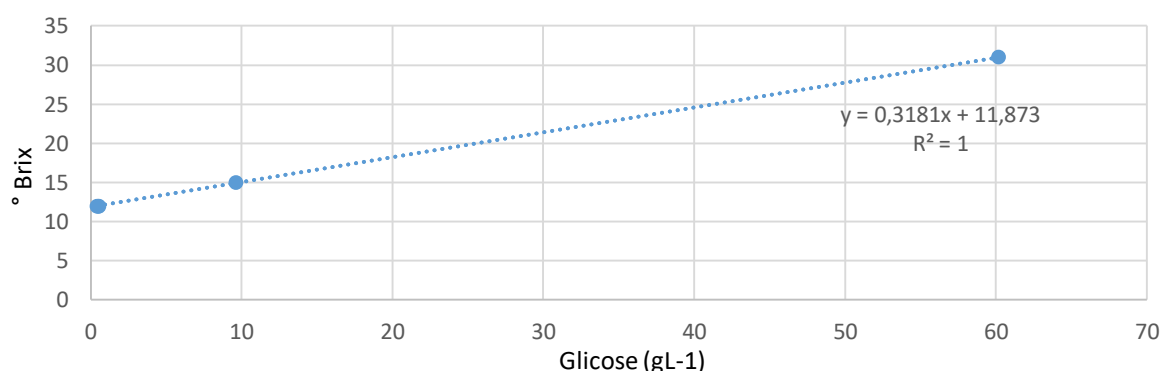
#### 5.4. Correlação entre Glicose e Grau Brix

Assim, após estabelecer que, o melhor parâmetro de correlação para determinar o teor de etanol é a análise de glicose, foi realizada a análise de correlação entre glicose e o Brix, que é o método de análise mais rápido e mais barato realizado pelos produtores.

**Gráfico 8: Relação entre o consumo de glicose e °Brix, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel seco**



**Gráfico 9: Relação entre o consumo de glicose e °Brix, pela levedura *S. cerevisiae* (variedade *bayanus*), durante o processo fermentativo do hidromel doce**



Há uma forte relação entre a concentração de glicose e o teor total de sólidos solúveis (°Brix), tanto em relação ao processo fermentativo do hidromel seco com correlação de 0,98, quanto no processo fermentativo do hidromel doce com correlação de 1.

Em relação aos resultados de análise de correlação entre a Glicose e o °Brix, o consumo de glicose apresenta uma correlação forte e positiva com as porcentagens de Grau Brix, tanto em relação ao processo fermentativo do hidromel seco, quanto no processo fermentativo do vinho doce. A medida em que a glicose foi consumida pela levedura, os valores em porcentagem de Grau Brix também diminuem.

Portanto, tanto a correlação entre a glicose e o teor Brix quanto a correlação da concentração de glicose com etanol demonstram claramente que a padronização dos



processos de fermentação para a produção de hidromel pode ser baseada na análise da concentração de glicose que pode ser medida utilizando qualquer kit farmacêutico à base de glicose oxidase ou através da quantificação do Grau Brix por meio de um refratômetro. A padronização por meio do glicosímetro é importante porque reduz a influência de outros sólidos solúveis na diluição de diferentes méis para a preparação de mostos mais reprodutíveis, porém a padronização através da quantificação do °Brix também seria uma opção eficiente e barata para prever o teor alcoólico formado ao fim da fermentação.

## **6. CONCLUSÃO**

A fermentação alcoólica ocorre nos primeiros 30 dias e a concentração inicial de açúcar determina a composição final do hidromel em termos de álcool e açúcares residuais. A sacarose e a glicose sendo completamente consumidas pela levedura (dias) e grande parte da frutose é encontrada como açúcar residual, apesar da cepa ser considerada uma boa fermentadora de frutose. A fermentação com maior quantidade de mel inicial (hidromel doce) apresentou menor eficiência de conversão dos açúcares em etanol pela levedura. O uso do kit comercial Accu-Chek® e a quantificação de sólidos solúveis provaram ser as formas mais confiáveis, rápidas, baratas e acessíveis de caracterizar o mosto para a produção de hidromel tanto seco quanto doce. Sugerimos que em trabalhos futuros, para a obtenção de hidromel com maior teor alcóolico, seja adicionado xarope de glicose.

## 8. REFERÊNCIAS

- Apicultura no Brasil. A.B.E.L.H.A. Associação Brasileira de Estudo das Abelhas, 2015. Disponível em: < <https://abelha.org.br/apicultura-no-brasil/#>>. Acesso em: 12/01/2020.
- AQUARONE, E. et al. Biotecnologia Industrial. In: Biotecnologia na Produção de Alimentos, v. 4, São Paulo: Edgard Blucher, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDOS DAS ABELHAS. Apicultura. Disponível em: <<https://abelha.org.br/apicultura/>>. Acesso em: 02 fev. 2018.
- BARBOSA, L. S.; MACEDO, J. L.; SILVA, M. R. F.; MACHADO, A. V. Estudo Bioquímico de Qualidade do Mel de Abelha Comercializado no Município de Caraúbas – RN. Revista Verde, Mossoró – RN, v. 9, n. 2, p. 45 - 51, 2014.
- BARBOSA, W. F.; SOUSA, E. P. Nível tecnológico e seus determinantes na apicultura cearense. Revista de Política Agrícola, Brasília – DF, Ano XXII, Nº 3, p. 33-47, Jul./Ago./Set. 2013.
- BASSO, T. O. Melhoramento da fermentação alcoólica em *Saccharomyces cerevisiae* por engenharia evolutiva. 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. doi:10.11606/T.87.2011.tde-14092011-153623. Acesso em: 12/01/2020.
- BRASIL. Instrução Normativa nº. 11, de 20 de outubro de 2000. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 out.2000. Seção 1, p.16-17.
- BRUNELLI, L.T., IMAIZUMI, V. M.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel a partir de cinco tipos de leveduras alcoólicas. Energ. Agric., Botucatu, vol. 32, n.2, p.200-208, abril-junho, 2017.
- CAMARGO, R.C.R.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R. Produção de Mel. EMBRAPA, 2002. 138 p.i.
- CAVALCANTI, A. L.; OLIVEIRA, K. F.; PAIVA, P. S.; RABELO Dias, M. V.; COSTA, S. K. P.; VIEIRA, F. F. Determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) e pH em bebidas lácteas e sucos de frutas industrializados. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada. Universidade Federal da Paraíba. Paraíba, Brasil, vol. 6, núm. 1, pp. 57-64, jan./abr. 2006.
- GASTONI, V. F. Indústria de Bebidas: inovação, gestão e produção. 1ª edição. Bulcher, 2011.
- DA SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry, v. 196, p. 309-323, 2016.
- DAMASCENO DO VALE, M.A. GOMES, F. A. R.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, B. Honey quality of *Melipona* sp. bees in Acre, Brazil. Acta Agron., Palmira, v. 67, n. 2, p. 201-207, 2018. Disponível em: <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28122018000200201&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122018000200201&lng=en&nrm=iso)>.

FERNANDES, D.; LOCATELLI, G. O.; SCARTAZZINI, L. S. Avaliação de diferentes estirpes da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de hidromel, utilizando méis residuais do processo de extração. Evidência, Joaçaba – SC, v. 9, n.1-2, p. 29-42, jan./dez. 2009.

FONSECA, A. R. P. Reutilização de Células Imobilizadas na Produção de Hidromel. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança – PA, p. 65, 2013

FREITAS, D. G. F.; KHAN, A. S.; SILVA, L. M. R. Nível Tecnológico e Rentabilidade de Produção de Mel de Abelha (*Apis Mellifera*) no Ceará. RER, Rio de Janeiro, vol. 42, nº 01, p. 171-188, jan./mar. 2004.

GOIS, G. C.; LIMA, C. A. B.; SILVA, L. T.; RODRIGUES, A. E. Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade. Acta Veterinaria Brasilica, v.7, n.2, p.137-147, 2013.

GOMES, T.M.C. Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação. Orientador: Profª Doutora Maria Letícia Miranda Fernandes Estevinho e Profª Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa. 2010. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2010.

GONÇALVES, L.P.; BINOTTO, E.; CINTRA, R.F. Análise da Apicultura no Estado de Mato Grosso do Sul: um enfoque na mudança organizacional. Revista de Administração IMED, Passo Fundo, v. 4, n. 2, p. 245-256, jan. 2015. ISSN 2237-7956. Disponível em: <https://seer.imed.edu.br/index.php/raimed/article/view/492/536>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa pecuária municipal. IBGE (2018). Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/74>> Acesso em: 26/08/2020

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ed. 4, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

KOBLITZ, M.G.B. Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 314 p.

LIMA, U.E.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos. Vol. 3. São Paulo: Edgard Blucher Ltda. pp 199-217, 2001. 616 p.

MENEZES, B.A.D.; MATTIETTO, R.A.; LOURENCO, L.F.H. Avaliação da qualidade de méis de abelhas africanizadas e sem ferrão nativas do Nordeste do estado do Pará. Ciências Animal Brasileira, Goiânia, v. 19, e46578, 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1809-68912018000100603&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912018000100603&lng=en&nrm=iso)>.

OSTERGAARD, S.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. v.64, p. 34–50, 2000.

PEREIRA, A. P.; MENDES-FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. M.; ESTEVINHO, L. M.; MENDES-FAIA, A. High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimisation of mead production. Food Microbiology, p. 114-123, 2013.

RAMALHOSA E.; GOMES T.; PEREIRA A. P.; DIAS T.; ESTEVINHO L. M. Mead Production: Tradition Versus Modernity. Ronald S. Jackson. *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 63, Burlington: Academic Press, 2011, p. 101-118.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. *Alim. Nutr.*, Araraquara – SP, v.17, n.1, p.113-120, jan./mar. 2006.

SOUZA, A.P.M., PATRICIO, D. C. R.; SOUZA, P. M.; FERRARINI, M.; OLIVEIRA, A. C.; FARIA, L. G. Comparativo de determinação do grau alcoólico entre densímetro de Gay-Lussac e título alcoométrico. Centro Universitário São Camilo. II ANAIS: Simpósio de assistência Farmacêutica, 2014.

SROKA, P.; SATORA, P. The influence of hydrocolloids on mead wort fermentation. *Food Hydrocolloids* v. 63 : 233-239. 2017. Doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.044

ŠVECOVÁ, B.; BORDOVSKÁ, M.; KALVACHOVÁ, D.; HÁJEK, T. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 38, p. 80-88. 2015. Doi: 10.1016/j.jfca.2014.11.002

TORTORA, G. JFUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017. 935 p. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. <<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/IN-11-de-2000.pdf>> Acesso em: 12/01/2020.

APÊNDICE 1 - Tabela 2: Resultados das análises realizadas com os vinhos doce e seco.

Análises	Seco				Doce			
	Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120	Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120
Glicose (g/L)	0,13	0	0	0	9,6	0,47	0,41	0,51
AR (g/L)	25,91	30,08	14,38	18,59	85,4	67,43	36,16	52,24
ART (g/L)	23,43	40,47	16,01	21,9	84,62	92,18	37,12	71,84
Frutose (g/L)	25,78	30,8	14,38	18,59	75,8	66,96	35,85	51,73
Sacarose (g/L)	-2,48	9,67	1,63	3,31	-0,78	24,75	0,96	19,6
Brix	5,25	5,00	6,00	6,00	15,00	12,00	12,00	12,00
Teor de álcool (%)	8,00	7,00	8,00	7,00	8,00	9,00	9,00	9,00

Fonte: Os autores.

APÊNDICE 2 - Tabela 3: Diferença

	Seco Diferença	Doce Diferença	Diferença
ART (g/L)	119,64	177,92	58,28
Brix -	8	18,7	10,7
Álcool	8 (7)	9 (10,46)	1

17 g/L gera 1 °GL

Fonte: Os autores.